Aus dem Röntgeninstitut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. A. Liechti
Arbeit unter der Leitung von Dr. W. Minder

Der Einfluss von Röntgenstrahlen auf den Kernteilungsablauf des Keimlings von Vicia faba equina

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae dentium
der Universität Bern

vorgelegt von

Durì WILLI
aus Ems [Grb.] in Bern

März 1942

Buchdruckerei Jos. Zehnders Erben, St. Gallen O – 1943

Aus dem Röntgeninstitut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. A. Liechti
Arbeit unter der Leitung von Dr. W. Minder

Der Einfluss von Röntgenstrahlen auf den Kernteilungsablauf des Keimlings von Vicia faba equina

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae dentium
der Universität Bern

vorgelegt von

Durì WILLI
aus Ems (Grb.) in Bern

März 1942

Buchdruckerei Jos. Zehnders Erben, St. Gallen O – 1943

Von der medizinischen Fakultät der Universität Bern auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Adolf Liechti zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 6. Mai 1942.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
sig. Muralt.

R UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546502_0092

I. Einleitung

Die biologische Wirkung der Röntgenstrahlen, auf der ihre therapeutische Anwendung beruht, wurde und wird sowohl an tierischem, pflanzlichem und auch anorganischem Material untersucht. Von den pflanzlichen Objekten kommen besonders solche bevorzugt zur Verwendung, die sich durch starke Stoffwechselvorgänge auszeichnen. Diese Bedingung erfüllen besonders die relativ schnell wachsenden Keimlinge, resp. Sprosse von Leguminosen und Graminacaeen, ferner Zwiebelhäute ev. Staubfäden. Wir benutzten für unsere Untersuchungen Wurzeln der Vicia faba equina.

Die erstmalige Verwendung von Bohnenkeimlingen als strahlenbiologisches Objekt, geht zurück auf Glocker, Hayer und Jüngling. Im Verlauf ihrer makroskopisch durchgeführten Untersuchungen stellten sie Veränderungen im Längenwachstum der keimenden Wurzeln unter dem Einfluss von Röntgenstrahlen fest. Am Röntgeninstitut der Universität Bern wurde ihre Methode in etwas modifizierter Form übernommen und die objektive Auswertung nach allen Richtungen erweitert und vertieft. Arbeiten darüber wurden daselbst ausgeführt von: Salzmann, Dölken, Arnold, Herren, Bakes und Hauser.

Jüngling und Langendorff gebührt das Verdienst, die biologische Strahlenwirkung auf die Keimlinge von vicia faba equina zum ersten Mal mikroskopisch ausgewertet zu haben. Als Test wählten sie den Prozentsatz, der sich in Mitose befindlichen Zellen bezogen auf die Gesamtzahl der Zellen. Dieser karykinetische Index gilt als Indikator für die Teilungs-, bezw. Wachstumsvorgänge der Zellen. Ob die Werte des karyokinetischen Index dem Längenwachstum proportional verlaufen oder nicht, entgeht noch unseren Kenntnissen und ist nicht ohne weiteres gegeben. Ein vermehrter Prozentsatz sich in Teilung befindlicher Zellen kann einerseits durch Beschleunigung des Wachstumsvorganges hervorgerufen werden, anderseits aber ebenfalls durch eine zeitliche Verlängerung des Kernteilungsablaufes — ob die Röntgenstrahlen unter bestimmten Bedingungen und in einem bestimmten Dosenbereich nicht auch derart wirken können, wissen wir nicht — bewirkt werden. Im letzteren Fall würde der Wert des karyokinetischen Index dem Längenwachstum entgegengesetzt verlaufen. Wir sehen also, dass ein Ergebnisvergleich zwischen den makroskopischen und den mikroskopischen Untersuchungen nur unter Berücksichtigung dieser Eventualität vorgenommen werden darf.

Jüngling und Langendorff geben als Ergebnis ihrer Untersuchungen zusammengefasst folgendes an:

1. a) Es besteht eine tagesperiodische Schwankung des Kernteilungsrhythmus unbestrahlter Wurzeln in dem Sinne, dass ein Maximum, vom Vormittag bis zum Abend reichend, ein Minimum, das während der Nacht besteht, zu erkennen ist.

   b) Röntgendosen, bei denen irgendwelche Schädigungen der einzelnen Zellen weder makroskopisch noch mikroskopisch

erkennbar sind, wirken auf das Zellgeschehen in der Art, dass der Ablauf der Kernteilungen beschleunigt wird, so daß an Stelle der bei unbestrahlten Wurzeln aufgefundenen einen Tageswelle mehrere Wellen auftreten können. Dabei kann die Amplitude dieser Wellen verstärkt werden.

2. a) Bei Bestrahlung mit höheren Dosen findet zuerst eine Abnahme der Mitosenzahlen bis zum Nullpunkt statt, als sog. Primäreffekt. Darauf folgt eine mitosenfreie Zeit. Nach dieser Zeit erfolgt ein Wiederanstieg mit vielen geschädigten Mitosen, als sog. Sekundäreffekt.

b) Wird eine, die Bohnenwurzel schwer schädigende Dosis in zwei Teile geteilt und die zweite Hälfte im Mitosenminimum verabreicht, so verpufft die Wirkung dieser zweiten Bestrahlung innerhalb der ersten 200 Stunden fast vollständig. Wird die zweite Hälfte der Dosis im Mitosenmaximum des Sekundäreffektes gegeben, so erfolgt innerhalb der ersten 200 Stunden nicht nur eine Summation, sondern sogar eine Uebersteigerung der Wirkung.

Diese Resultate zeigen eine starke Abhängigkeit der Wirkung einer zweiten Strahlenapplikation vom zeitlichen Abstand von der ersten und dürften deshalb für die Krebstherapie mit fraktionierter Röntgenapplikation von wesentlicher Bedeutung werden, falls ihnen allgemeine Gültigkeit zukommen sollte.

Angeregt durch die interessanten Resultate von Jüngling und Langendorff wurden in unserem Institut die Versuche über die biologische Wirkung von Röntgenstrahlen auf das mikroskopische Gebiet ausgedehnt, wobei die Fragestellung zunächst im wesentlichen dieselbe war, wie bei den Arbeiten von Jüngling und Langendorff.

Wir haben unsere Versuche gleichzeitig mit Zehnder durchgeführt. Für Zehnder ergab sich folgende Problemstellung:

1. Besteht eine Tagesperiodizität im Kernteilungsablauf unbestrahlter Wurzeln?
2. In welcher Weise wird der Kernteilungsablauf durch Röntgenstrahlen beeinflusst?

Das Ergebnis seiner Untersuchungen steht vorläufig noch aus.

Meine Aufgabe bestand in der Beantwortung folgender Fragestellungen:

1. a) Ergeben die Resultate als Nebenergebnis Anhaltspunkte für die Annahme eines Tagesrhythmus im Mitosenverlauf der Keimlinge?
   b) Findet eine Beschleunigung der Kernteilungen und eine Mitosenphasenverschiebung des normalen Mitosenrhythmus durch eine einmalige, die Zellen nicht stark schädigende Röntgenapplikation statt?
2. a) Ist ein Primär- und Sekundäreffekt im Sinne Jünglings und Langendorffs festzustellen?
   b) Ist der von Jüngling und Langendorff angegebene besonders wirksame Zeitpunkt für die Applikation der zweiten Röntgendosis etwa 21 Stunden nach der ersten Dosis von einer potenzierten Wirkung begleitet?

Unsere Problemstellung gestattet einen Vergleich unserer Resultate mit denen von Jüngling und Langendorff umsomehr, als auch wir als strahlenbiologisches Objekt Keimlinge der Vicia faba equina verwendet haben.

Für das methodische Vorgehen bei unserer Untersuchung konnten wir uns auf die von Herrn Dr. von Büren festgesetzten

Richtlinien stützen. Ob diese Methodik mit der von Jüngling und Langendorff übereinstimmt, entgeht unseren Kenntnissen, da Jüngling und Langendorff in ihren Arbeiten ihre Methodik nur andeutungsweise erwähnt haben. Ein eventueller Unterschied in der Methodik dürfte für die Resultate aber kaum von Bedeutung sein, da es sich ja nur um das quo modo handelt.

In unserer Arbeit beschränkten wir uns auf eine Applikation von zwei verschieden grossen Röntgendosen, welche uns veranlassten, den Versuchsverlauf in zwei verschiedene Versuchsserien einzuteilen. Appliziert wurden in der ersten Versuchsserie 10 r, in der zweiten Versuchsserie 150 r. Es sind das zwei Dosengrössen, deren Wirkungen uns von früheren Versuchen her bekannt sind. Wir wissen, dass 10 r eine sichere Wachstumsbeschleunigung und 150 r eine sichere Wachtstumshemmung hervorrufen.

II. Methodik

Das zu den Versuchen notwendige Material bestand aus: Eine Auslese trockener, bester Pferdebohnen, sterilisiertes Sägemehl, 28 durchsichtige Akkumulatorengläser, 3 Bogen Filtrierpapier, 5 Stickrahmen (20 cm) mit Cellophan bespannt, ca. 150 Glastöpfchen von einer Höhe von 2 cm und einem Durchmesser von $1^1/_2$ cm, 10 durchsichtige Einmachgläser, ein gewöhnlicher Gazestreifen für die Herstellung von 81 kleinen Säckchen, Papieretiketten, 162 Objektträger, 162 Deckgläschen, ein Mikrotom, ein Thermostat, ca. 200 gr. Paraffin vom Schmelzpunkt 58° C, Flemmingsche Lösung, Alkohol (30, 50, 70, 85, 96 und 100%ig), Chloroformalkohol, Chloroform, Chloroform-Paraffin, Eiweissglycerinlösung, Chromsäure (1 und 3%) Xyllol, Wasserstoffsuperoxyd (3%), Safranin, Gentianaviolett, Orange G, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Ankeimung des Keimgutes

Verwendet wurde eine Auslese einwandfreien Keimgutes von Vicia faba equina. Die zur Verwendung kommende Menge betrug pro Versuchsserie 162 Keimlinge. Davon dienten 56 für die unbestrahlte Kontrolle, 56 für die einmal bestrahlte und 50 für die zwei-

mal bestrahlte Reihe. Ungefähr das doppelte Quantum legten wir in Wasser ein. Nach 24 Stunden waren die Bohnen mit dem für die Keimung nötigen Wasser versehen und erwiesen sich keimfähig. Um die für die Bestrahlung nötige Wurzellänge von ca. 15 mm zu erhalten, liessen wir die Bohnen für 48 Stunden in sterilisiertem, angefeuchtetem Sägemehl keimen.

Bestrahlung des angekeimten Materials

Die Röntgenbestrahlung führten wir mit einem Tiefentherapieapparat mit folgenden Indexzahlen durch:

Intensität 10 r / Min.
Feldgrösse 15 × 20 cm^2
Fokus-Keimdistanz 50 cm
Strahlung 65 KV, 3,5 mA, ohne Filter.

Von den angekeimten ca. 350 Bohnen wählten wir 162 Stück aus, welche einen annähernd gleich langen Keimling aufwiesen. Der dritte Teil davon, der Kontrollzwecken diente, betteten wir in bereitgestellte, mit sterilem Sägemehl ausgefüllte Akkumulatorengläser ein. Die restlichen 106 Keimlinge wurden auf cellophanbespannte und mit sterilem Sägemehl beschickte Stickrahmen in konzentrischer Anordnung, mit den Wurzelspitzen nach innen, gelegt. Nachdem die Bohnen noch mit angefeuchtetem Filtrierpapier bedeckt waren — um sie durch die bei der Bestrahlung auftretenden Wärme vor Austrocknung zu schützen — wurden sie mit einer Intensität von 10 r / Min. bestrahlt. Die Bestrahlung erfolgte um 16.45 Uhr. Am darauffolgenden Tag wurden 50 Keimlinge um 13.45 Uhr in der genau gleichen Weise zum zweiten Mal bestrahlt.

Fixierung der Wurzelspitzen (nach Dr. von Büren)

Unsere Untersuchung erstreckte sich über eine Zeitspanne von 120 Stunden. Innerhalb dieser 120 Stunden setzten wir 28 Zeitpunkte fest, an denen die jeweiligen Wurzeln abgeschnitten und fixiert wurden.

Kurz nach der Bestrahlung wählten wir die Zeitpunkte dichtgedrängt, da gerade dann eine spezielle Einwirkung zu vermuten war. Später (von der 18. Stunde an) wählten wir die Intervalle in Zeitabschnitten von je 6 Stunden.

Die genaue Angabe der Zeitpunkte lautet:

1.	Zeitpunkt	—						Bestrahlung
2.	„	—	bei	1/4	h	nach	der	„
3.	„	—	„	1/2	„	„	„	„
4.	„	—	„	1	„	„	„	„
5.	„	—	„	2	„	„	„	„
6.	„	—	„	3	„	„	„	„
7.	„	—	„	6	„	„	„	„
8.	„	—	„	9	„	„	„	„
9.	„	—	„	12	„	„	„	„
10.	„	—	„	15	„	„	„	„
11.	„	—	„	18	„	„	„	„

12.—28. Zeitpunkt von da ab immer nach 6 Stunden.

Die jeweiligen Wurzeln wurden an dem für sie bestimmten Zeitpunkt fixiert. Zu diesem Zweck wurden sie etwa in eine Länge von 8—10 mm abgeschnitten und in die bereitgestellte Fixierflüssigkeit gelegt. Als solche verwendeten wir Flemmingsche Lösung:

Acid. chromic.	2%	72,0
Acid. osmici	2%	10,0

Acid. acetic. conc.	4,8
A. dest.	84,0

Darin blieben die Wurzeln während 24 Stunden.

Anfertigung von Paraffinschnitten

Nachdem die Wurzeln 24 h in der Fixierflüssigkeit verblieben waren, wurden sie während 1 h in fliessendem Wasser ausgewaschen. Zu diesem Zweck legten wir die Bohnen paarweise (je solche von einem Zeitpunkt) in ein Gazesäckchen, welches mit einem Faden zugebunden wurde. So wurden sie freischwebend in einem Becken mit fliessendem Wasser gewaschen. Erwähnt soll noch werden, dass wir ein jedes freie Fadenende mit einer Etikette versahen, auf der eine Nummer den Fixierungszeitpunkt anzeigte. Die ausgewaschenen Wurzelspitzen gelangten für je 2 h in eine aufsteigende Alkoholreihe. Die gebrauchten Alkoholkonzentrationen waren: 30, 50, 70, 85, 96 und 3×100 %. Für den 30, 50 und 70% Alkohol bedeuteten 2 h eine maximale Zeit. Vom absoluten Alkohol kamen die Objekte in eine Mischung von Alkohol absol. und Chloroform 1 : 1 für 24 Stunden. Dann in reines Chloroform, ebenfalls für 24 Stunden und schliesslich in eine gesättigte Chloroformparaffinlösung (5 gr Paraffin auf 25 cm^3 Chloroform) ebenfalls für 24 Stunden. Aus dem Chloroformparaffin kamen die Wurzeln in 58° Paraffin, das im Thermostat bei 60° C flüssig gehalten wurde. Die Verbleibdauer im Thermostat betrug 6, minimal 5 Tage. Dabei befanden sich die Wurzelspitzen in kleinen etikettierten Glastöpfchen.

Die folgende Prozedur bestand im Giessen der Paraffinblöcke. Das Paraffin wurde mit den Wurzeln in ein Lymphglas gegossen, dessen Oeffnung mit Glycerin ausgestrichen war. Beim Erstarren

wurden die Wurzelspitzen parallel und auf gleiche Höhe gerichtet (es befanden sich je 2 in einem Block, entsprechend einem Zeitpunkt). Hierauf wurde das Lymphglas mit dem in Erstarrung begriffenen Paraffin rasch in kaltem Wasser zum völligen Erstarren gebracht, wobei sich der Block von selbst von der Unterlage löste.

Bei den hierauf ausgeführten Schnitten achteten wir auf eine Schnittdicke von 10 Mü. Zu beachten war dabei besonders die Temperatur und die richtige Einstellung des Mikrotomessers, um unverzerrte und gleichmässige Paraffinbänder zu erhalten. Die Paraffinbänder wurden auf Objektträger aufgezogen, welche vorher mit Chromsäure entfettet, mit Aeztinte angeschrieben und mit Eiweissglycerinlösung eingerieben waren. Die Ausbreitung erfolgte mit Hilfe von feinen Tuschpinseln. Ein Tropfen Wasser auf die Objektträger gegeben, erleichterte die Ausbreitung. Pro Objektträger kamen ca. 20 bis 30 Schnitte für einen einzigen Zeitpunkt. Berücksichtigen wir noch den Umstand, dass sich auf jedem Schnitt 2 Wurzelspitzen befanden, standen uns pro Zeitpunkt ca. 50 Schnitte zur Verfügung. Das ergibt total für beide Versuchsserien berechnet ca. 8400 Schnitte.

Die Objektträger mit den fertig aufgezogenen Schnitten gelangten in exakt horizontaler Lage für 2—3 Stunden in den Thermostaten. Während dieser Zeit koaggulierte das Eiweiss, wodurch die Präparate am Objektträger fixiert wurden.

Färbung der Schnitte

Unsere Präparate färbten wir nach der, von Flemming angegebenen Methode. Diese sieht 3 Farblösungen vor:

1. Safranin: Konzentr. alkohol. Safraninlösung, zu der man ein gleiches Volumen Wasser (nicht destilliert) und ganz wenig Anilinwasser zufügt.

2. Gentianaviolett: Eine sehr dunkle, wässerige Lösung.

3. Orange G: Eine helle, wässerige Lösung.

Vorerst musste das Paraffin entfernt werden. Zu diesem Zwecke wurden die Objektträger 5 Min. in Xyllol gebadet und die gleiche Manipulation mit frischem Xyllol wiederholt. Hernach wurden die Objekte in 96% Alkohol ausgewaschen und in gewöhnliches Wasser übergeführt. Hierauf kamen die Schnitte für 2 h in 3% Wasserstoffsuperoxydlösung und darauf für 15 Min. in fliessendes Wasser. Die Präparate mussten nun zunächst gebeizt werden. Zu diesem Zwecke wurden sie für 3 h in 1% Chromsäure gebracht. Erst nachdem die Chromsäure durch Wässern während 30 Min. in fliessendem Wasser entfernt war, legten wir die Schnitte über Nacht in eine gesättigte konzentrierte Wasser-Alkohol-Safranin-Lösung. Aus dem Safranin kamen die Präparate in Wasser A (gewöhnliches Wasser), dann wurden sie in gewöhnlichem Alkohol geschwenkt und hernach einige Tropfen Salzsäurealkohol aufgegossen und zwar so lange, bis der Alkohol ziemlich rein ablief. Hierauf wässerten wir die Schnitte in Wasser B, nachdem sie vorher in gewöhnlichem Alkohol geschwenkt wurden. Jetzt kamen die Schnitte für 3—5 Min. in Gentinaviolett; darauf mit Wasser A abgespült. Nun wurde eine wässerige Orange G-Lösung für 5 Sek. aufgegossen, dann Alkohol aufgetropft und die Orange-Lösung mit dem Alkohol vermischt belassen, bis die Schnitte schmutzig-violett aussahen und der Alkohol farblos ablief. Dann wurden die Schnitte direkt ins Nelkenöl gebracht. Nach 5 Min. wurden die Schnitte mit einem sauberen Läppchen gereinigt und so vom Nelkenöl befreit und schliesslich in Kanadabalsam eingeschlossen.

Für jede Versuchsserie erhielten wir 81 Objektträger mit je ca. 50 Schnitten. Jedes Präparat erhielt seine Etikette, mit genauer Datierung des Zeitpunktes.

Bestimmung des karyokinetischen Indexes

Handelte es sich im bisherigen Verlauf unserer Arbeit um die Herstellung einwandfreier Präparate, so folgte nun der Hauptteil der Untersuchung, nämlich die Auszählung der Längsschnitte mit Hilfe eines Okularnetzmikrometers, um das Verhältnis der Mitosen zur Zahl der ruhenden Kerne festzustellen. Um von vorneherein jede Unklarheit über den Begriff «Mitose» auszuschalten, definierten wir diese dann als gegeben, wenn in einem Kerne deutlich abgegrenzte Chromosomenfäden vorhanden waren. Die lokale Abgrenzung unseres Untersuchungsbereiches eines Wurzelabschnittes war durch die Wachstumszone, welche durch das Periblem und Plerom dargestellt wird, gegeben. Am besten ausgebildet fanden wir diese Zone in den zentralen Teilen unserer Längsschnitte. Diese wurden deshalb zur Auszählung herangezogen. Um ein möglichst gutes Durchschnittsresultat zu erhalten, untersuchten wir für jeden Zeitpunkt je 4 Wurzellängsschnitte. Von jedem Längsschnitt zählten wir im Bereich des Periblems und Pleroms 300–400 Kerne aus und stellten das Verhältnis auf, zwischen gezählten Mitosen und gezählten Ruhekernen. Aus der Summe der Werte aller für einen Zeitpunkt ausgezählten Schnitte wurde der Durchschnittswert errechnet, der dann dem Zeichnen der Kurven zu Grunde gelegt wurde.

III. Resultate

Bei der Darstellung der Ergebnisse liessen wir uns von dem Gesichtspunkt leiten, eine möglichst deutliche Uebersicht zu erhalten. Daraus ergaben sich die Richtlinien für die Aufstellung der Tabellen:

In jeder der beiden Versuchsserien unternahmen wir eine Unterteilung der Zeit in dem Sinne, dass wir für die ersten 24 Stunden — innerhalb denen wir die Zeitpunkte, wie oben schon erwähnt, relativ dicht gedrängt gewählt hatten — eine besondere Tabelle aufstellten und ebenso für die restlichen 96 Stunden, innerhalb denen wir die Zeitpunkte relativ weit auseinanderliegend gewählt hatten.

Aus den drei Versuchsgruppen pro Serie (Kontrolle, einmal bestrahlte und zweimal bestrahlte Gruppe) ergab sich zwangsläufig eine weitere Unterteilung in zwei Gruppen, weil wir die unbestrahlte Kontrolle und die einmal bestrahlte Gruppe auf der gleichen Tabelle einfügten, während für die zweimal bestrahlte Gruppe eine eigene Tabelle hergestellt werden musste. Somit ergaben sich 4 Tabellen pro Versuchsserie, die wir mit Ia— Id und IIa—IId bezeichnet haben.

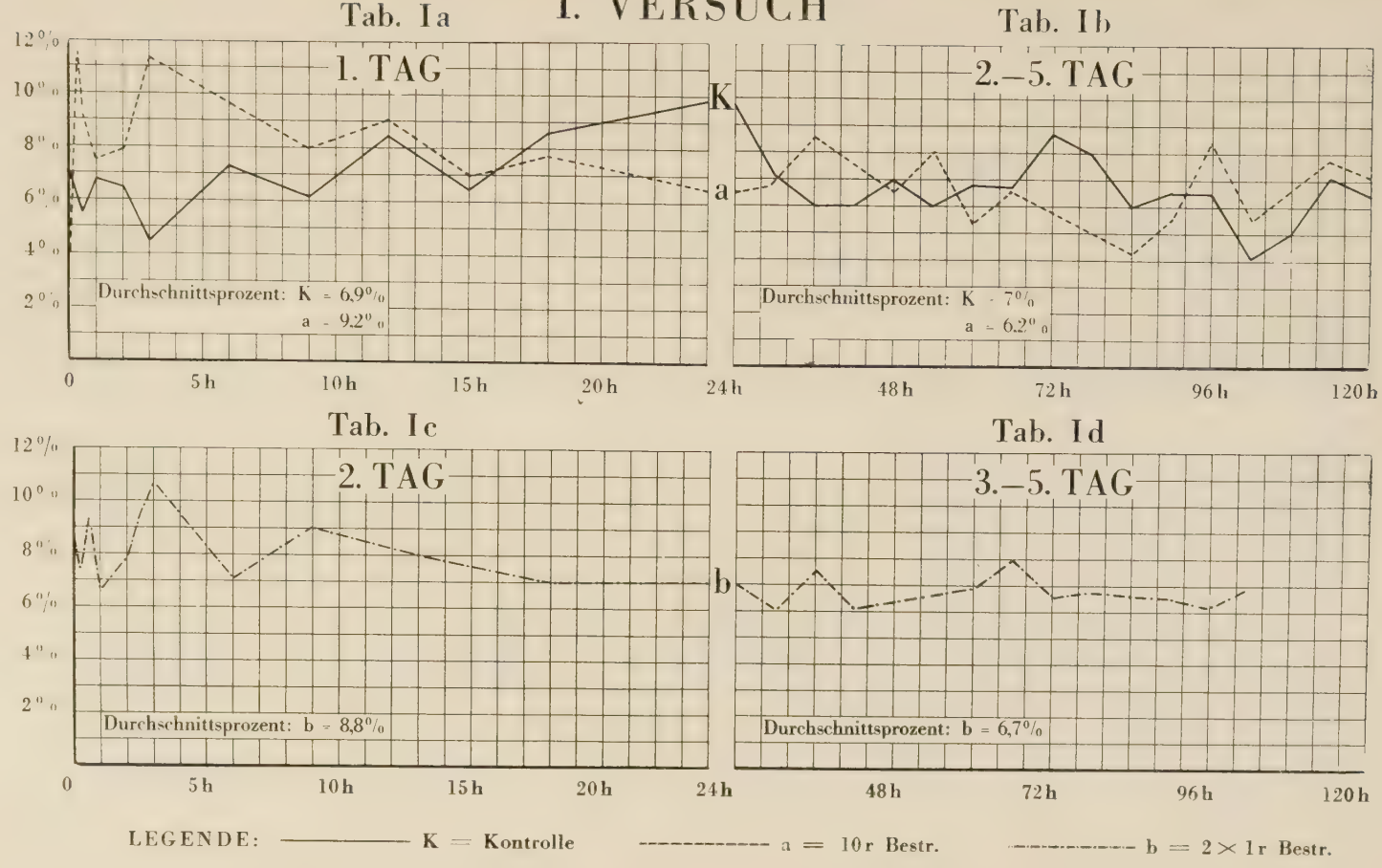
Die für die Tabellen benützten Abkürzungen lauten:

K. I. = karyokinetischer Index
Z.n.B. = Zeitpunkt nach der Bestrahlung
a = Werte der einmal bestrahlten Wurzel (‰)
b = Werte der zweimal bestrahlten Wurzel (‰)
k = unbestrahlte Kontrolle
p = Verhältnis a : k.

I. Versuchsserie

Z. n. B.	a	k	b	p
to	5,3	7,0	8,7	0,7
1/4 h	11,5	6,2	7,3	1,8
1/2 h	9,2	5,5	9,3	1,6
1 h	7,5	6,8	6,6	1,1
2 h	7,9	6,5	7,8	1,2
3 h	11,3	4,5	10,3	2,4
6 h	9,5	7,3	7,1	1,3
9 h	8,0	6,2	9,0	1,3
12 h	9,0	8,5	8,3	1,0
15 h	6,9	6,5	—	1,0
18 h	7,8	8,6	7,0	0,9
24 h	6,5	9,7	7,0	0,6
30 h	6,8	7,2	6,1	0,9
36 h	8,5	6,0	7,5	1,4
42 h	—	6,0	6,2	—
48 h	6,5	7,0	—	0,9
54 h	8,0	6,9	6,7	1,3
60 h	5,3	6,8	6,9	0,8
66 h	6,5	6,7	8,0	0,9
72 h	3,0	8,7	6,6	0,3
78 h	5,0	8,0	6,7	0,5
84 h	4,3	6,0	6,6	0,7
90 h	5,5	6,5	6,5	0,9
96 h	8,3	6,5	6,3	1,2
102 h	5,5	4,2	7,0	1,3
108 h	6,5	5,0		1,3
112 h	7,7	7,1		1,0
120 h	7,1	6,5		1,0

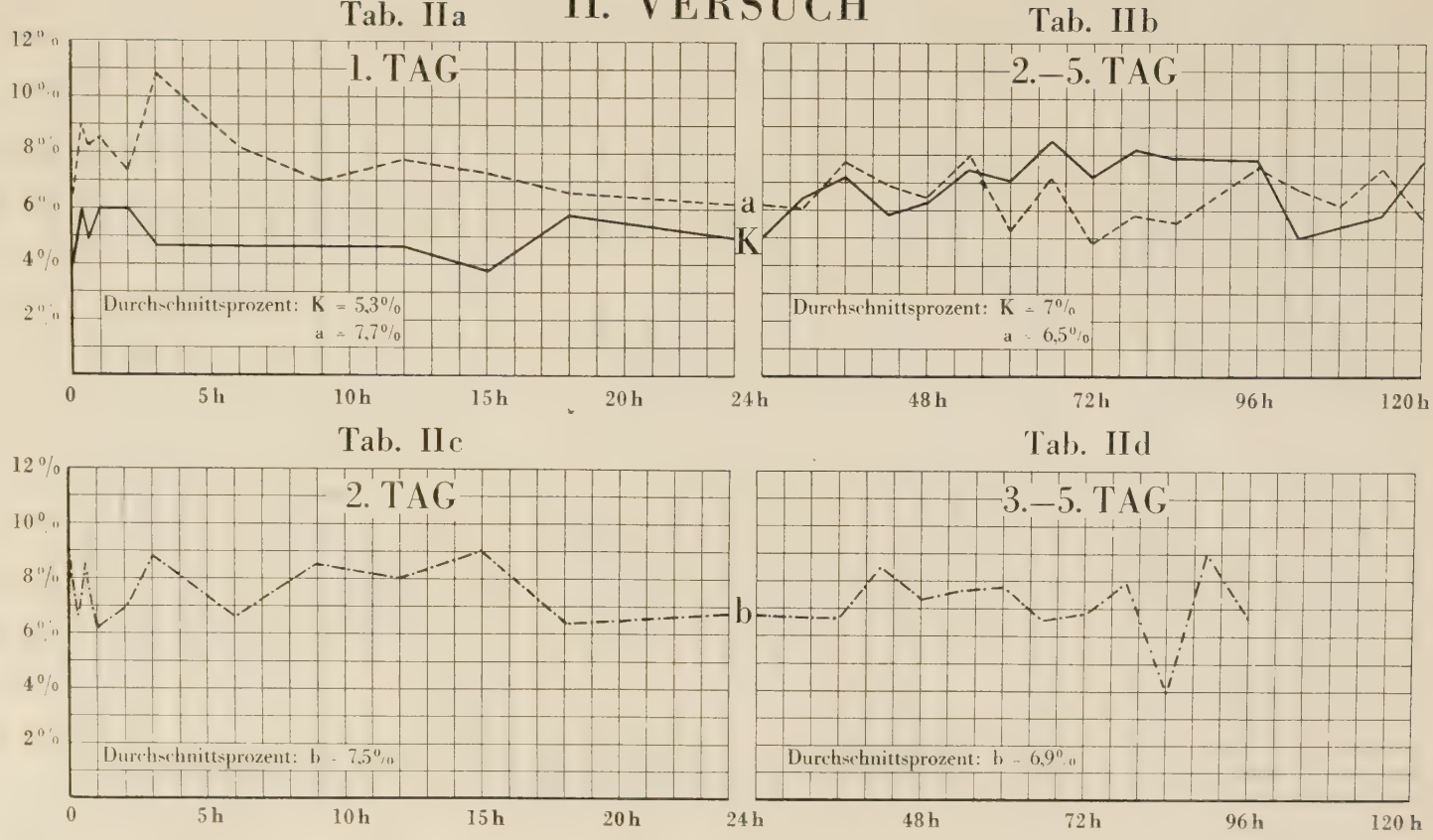
I. VERSUCH


Tab. Ia
1. TAG
Tab. Ib
2.–5. TAG
12%
10%
8%
6%
4%
2%
K
a
Durchschnittsprozent: K = 6,9%
a = 9,2%
Durchschnittsprozent: K = 7%
a = 6,2%
0
5h
10h
15h
20h
24h
48h
72h
96h
120h
Tab. Ic
2. TAG
Tab. Id
3.–5. TAG
b
Durchschnittsprozent: b = 8,8%
Durchschnittsprozent: b = 6,7%
LEGENDE: K = Kontrolle
a = 10r Bestr.
b = 2× 1r Bestr.

II. Versuchsserie

Z. n. B.	a	k	b	p
to	6,6	3,7	8,7	1,8
1/4 h	9,0	6,0	6,6	1,5
1/2 h	8,2	4,7	8,5	1,6
1 h	8,5	6,0	6,1	1,4
2 h	7,3	6,0	6,8	1,2
3 h	10,7	4,6	8,8	2,3
6 h	8,2	4,7	6,6	1,7
9 h	7,0	4,7	8,5	1,4
12 h	7,7	4,7	8,1	1,6
15 h	7,3	3,8	9,0	1,9
18 h	6,6	5,8	6,4	1,1
24 h	6,2	5,0	6,7	1,2
30 h	6,1	6,5	5,8	0,9
36 h	7,7	7,3	6,6	1,0
42 h	7,0	5,9	6,6	1,2
48 h	6,5	6,4	8,5	1,0
54 h	8,0	7,5	7,3	1,0
60 h	5,3	7,1	7,6	0,7
66 h	7,2	8,5	7,7	0,8
72 h	4,8	7,3	6,5	0,6
78 h	5,7	8,2	6,7	0,7
84 h	5,6	7,9	7,9	0,7
90 h	6,5	—	4,0	—
96 h	7,7	7,9	8,0	0,8
102 h	6,8	5,1	6,5	1,3
108 h	6,2	5,3		1,2
112 h	7,5	5,8		1,3
120 h	5,7	7,8		0,7

II. VERSUCH


Tab. IIa
1. TAG
12 %
10 %
8 %
6 %
4 %
2 %
a
K
Durchschnittsprozent: K = 5,3%
a = 7,7%
0
5h
10h
15h
20h
24h
Tab. IIb
2.–5. TAG
Durchschnittsprozent: K = 7%
a = 6,5%
48h
72h
96h
120h
Tab. IIc
2. TAG
12 %
10 %
8 %
6 %
4 %
2 %
b
Durchschnittsprozent: b = 7,5%
0
5h
10h
15h
20h
24h
Tab. IId
3.–5. TAG
Durchschnittsprozent: b = 6,9%
48h
72h
96h
120h
LEGENDE: K = Kontrolle
a = 150r Bestr.
b = 2 × 150r Bestr.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Die Diskussion und Interpretation unserer Ergebnisse geben wir zunächst für jede der beiden Versuchsserien getrennt, um anschliessend eine zusammenfassende Interpretation anzufügen. Es sei aber gleich vorausschickend bemerkt, dass ein abschliessendes Urteil in keiner Weise möglich sein wird und jegliche Interpretation mit äusserster Vorsicht gegeben werden muss, handelt es sich doch bei unserer Arbeit nur um einen kleinen Anschnitt einer strahlenbiologischen Problemstellung, die erst aus einer Summe von Arbeiten heraus zu beantworten sein wird.

1. Diskussion der Ergebnisse der I. Versuchsserie

a) Beantwortung unserer Fragestellung 1. a):

Aus den Kurven von Jüngling und Langendorff ist ersichtlich, dass sie das Maximum ihres angegebenen Tagesrhythmus um 5 Uhr abends erhielten, ihr Minimum um 5 Uhr morgens. Bei der Untersuchung unserer unbestrahlten Kontrolle können wir nun diese Erscheinung nicht von der Hand weisen. Die Maxima unserer Kurven (abgesehen von kleinen Abweichungen) liegen tatsächlich jeweilen ca. um 17 Uhr, während die Minima oft morgens um 5 Uhr anzutreffen sind. Da wir unsere

erste Versuchsserie nachmittags um 16.45 Uhr begannen, fällt der Zeitpunkt 5 Uhr abends auf: to, 24, 48, 72, 96 und 120 h nach der Bestrahlung. Der Zeitpunkt 5 Uhr morgens auf: 12, 36, 60, 84 und 108 h nach der Bestrahlung. Eben dort treffen wir von kleinen Abweichungen abgesehen die Maxima bezw. Minima unserer Kurven. Die Ausschläge sind aber nur geringfügig und nicht ganz eindeutig.

b) Beantwortung unserer Fragestellung 1. b):

Es handelt sich um die Frage, ob eine einmalige die Zellen nicht schädigende Röntgendosis eine Beschleunigung der Kernteilungen im Sinne einer Verschiebung der Mitosenphasen zur Folge hat.

Was die Beschleunigung des Kernteilungsrhythmus anbelangt, so können wir eine solche, abgesehen vom ersten Tag, nicht feststellen. Die Zahl der Wellenberge und -täler (welche Jüngling und Langendorff als Ausdruck des Mitosentempos ansehen) zeigten keine Veränderung. Wohl aber der Phasenverlauf. Eine Aenderung, die auch Jüngling und Langendorff feststellen konnten. Für die ersten 9 Stunden nach der Bestrahlung sehen wir einen ausgesprochen entgegengesetzten Phasenverlauf zwischen den einmal bestrahlten und unbestrahlten Objekten. Von da ab, bis etwa 30 Stunden nach der Bestrahlung ähneln sich die beiden Kurven in ihrer Verlaufsrichtung wieder. Von der 30. Stunde weg bis zur 90. Stunde laufen sie wieder entgegengesetzt, um von da weg bis zur 120. Stunde wieder einander zu gleichen. Ein Einfluss auf die Mitosenphasen durch die Bestrahlung darf also wohl als bestehend angesehen werden. Zu erwähnen wäre noch eine Erscheinung, die Jüngling und Langendorff nicht angeben,

die aber deutlich bei einer Betrachtung der Tabellen Ia und Ib ersichtlich ist. Bis zur 15. Stunde verläuft die Kurve der einmal bestrahlten Wurzeln höher als die Kurve der unbestrahlten. Von der 15. Stunde an, erreicht sie tiefere Werte als die unbestrahlte Kontrolle, um im weiteren Verlauf bald höher, bald tiefer zu liegen, aber nur in sehr kleinen Abständen. Wir sehen uns deshalb zur Annahme berechtigt, dass eine einmalige Applikation einer Röntgendosis von 10 r auf den Mitosenverlauf in dem Sinne wirkt, dass innerhalb der ersten 15 Stunden nach der Bestrahlung der karyokinetische Index an Wert zunimmt, um hernach wieder dem Normalwert zuzustreben.

c) Beantwortung unserer Fragestellung 2. a):

Es handelt sich um die Frage, ob ein Primär- und Sekundäreffekt im Sinne Jünglings und Langendorffs festzustellen ist. Eine Untersuchung in diesem Sinne ist bei unserer ersten Versuchsserie deshalb nicht möglich, weil es sich bei uns um eine Applikation von einer nur 10 r starken Röntgendosis handelt.

Jüngling und Langendorff geben einen Primär- und Sekundäreffekt nur für solche Dosen an, bei welchen eine deutliche Schädigung der Zellen feststellbar ist. Untersuchen wir unsere Kurve der einmal bestrahlten Wurzeln trotzdem unter dem Gesichtspunkt eines Primär- und Sekundäreffektes, so können wir auch bei unserer kleinen Dosis — allerdings nur andeutungsweise — prinzipiell einen derartigen Kurvenverlauf konstatieren. Die absteigende Welle des Primäreffektes erstreckt sich über das Gebiet der ersten 24 Stunden. Mit einem leichten darauffolgenden Anstieg der Kurve, beginnt von der 30. Stunde an der Sekundäreffekt.

d) Beantwortung unserer Fragestellung 2. b):

Die Abhängigkeit der Wirkung einer zweiten Bestrahlung vom Zeitpunkt nach der ersten Bestrahlung untersuchten Jüngling und Langendorff nur bei solchen Dosen, bei denen eine eindeutige Schädigung makroskopisch und mikroskopisch eintrat. Das Ergebnis unserer Untersuchung in Bezug auf eine zweite Strahlenapplikation in der ersten Versuchsserie in einen Vergleich mit den Ergebnissen, die Jüngling und Langendorff erhielten, zu stellen, verbietet sich deshalb. Unabhängig davon können wir folgendes feststellen:

Wird eine, die Bohnenwurzel in keiner Weise schädigende Dosis in zwei Teile geteilt und die zweite Hälfte in der Zeit des Mitosenminimums verabreicht, so unterscheidet sich die Wirkung innerhalb der ersten 15—18 Stunden kaum von jener, die wir bei der ersten Strahlenapplikation erhielten, wie aus Tabelle Ic zu erkennen ist. In den darauffolgenden Stunden sehen wir eine starke Abflachung und Abnahme der Zahl der Wellenberge und -täler. Im Sinne Jünglings und Langendorffs gesprochen, würde dies einer Verlangsamung des Mitosenrhythmus entsprechen. Wir möchten uns dieser letzteren Interpretation enthalten, da es uns etwas gewagt erscheint, aus der Zahl der Berge und Täler auf das Ablaufstempo des Mitosenrhythmus zu schliessen.

2. Diskussion der Ergebnisse der 2. Versuchsserie

a) Beantwortung unserer Fragestellung 1. a):

Wir verfolgen zunächst wieder die Frage nach dem Vorhandensein eines Tagesrhythmus an Hand der unbestrahlten Kontrolle aus der zweiten Versuchsserie. Der erste Kontrollzeitpunkt liegt wieder bei 16.45 Uhr, wie bei der ersten Versuchsserie.

Die Maxima wären also wieder bei den Zeitpunkten: to, 24, 48, 72, 96 und 120 h nach der Bestrahlung zu erwarten. Die Minima bei den Zeitpunkten: 12, 36, 60, 84 und 106 h nach der Bestrahlung.

Bei der Betrachtung unserer Kontrollkurve k in den Tabellen IIa und IIb, können wir diese Erscheinung für die ersten 24 Stunden und für die Stunden 78 bis 120 nach dem Versuchsbeginn relativ deutlich nachweisen. Zwischen den Zeitpunkten 24 h und 78 h hingegen ist der Nachweis eines Tagesrhythmus kaum möglich; finden wir bei der 36. Stunde ja gerade eine Umkehrung der Verhältnisse, indem wir hier ein Maximum vorfinden, an Stelle eines aus dem Tagesrhythmus zu erwartenden Minimums. Wir können deshalb für unsere zweite Versuchsserie aus den für die unbestrahlte Kontrolle resultierenden Werten, einen Tagesrhythmus nicht sicher bestätigen, aber auch nicht völlig von der Hand weisen.

b) Beantwortung unserer Fragestellung 1. b):

Hier deckt sich das Resultat mit dem aus der ersten Versuchsserie, also, keine Feststellung einer Beschleunigung des Mitosenrhythmus, Feststellung einer anfänglichen Phasenverschiebung im Kernteilungsablauf und eine Erhöhung des karyokinetischen Indexes für die ersten 24 Stunden. Das letztere Resultat ist umso erstaunlicher, da es sich bei den von uns applizierten 150 r um eine Röntgendosis handelt, die makroskopisch eine sichere Hemmung des Wachstums der Keimlinge erzeugt. Wir müssen deshalb annehmen, dass eine Röntgendosis von 150 r eine Verlangsamung des Kernteilungsablaufes bewirkt und dass dadurch der karyokinetische Index erhöht wird.

c) Beantwortung unserer Fragestellung 2. a):

Die von uns in der zweiten Versuchsserie angewandten Dosis sollte nach Jüngling und Langendorff einen Primär- und Sekundäreffekt zur Folge haben. Aus der Tabelle IIa und IIb können wir beobachten, dass bei unseren Versuchen ein Kurvenverlauf im Sinne des Primär- und Sekundäreffektes wohl prinzipiell genommen zu erkennen ist, aber bei weitem nicht so eindeutig, wie Jüngling und Langendorff angeben. Eine mitosenfreie Zeit zwischen Primär- und Sekundäreffekt hat sich bei unseren Versuchen nicht eingestellt; hingegen ist ein Abfall der Kurve und zwar ein fortlaufender vom Zeitpunkt nach der Bestrahlung bis zur 30. Stunde eingetreten, aber nur um eine Differenz von ca. 2%. Von der 30. Stunde an verläuft die Kurve wieder leicht ansteigend, im Sinne des Sekundäreffektes.

d) Beantwortung unserer Fragestellung 2. b):

Die angewandte Dosis von 2×150 r gestattet uns einen Vergleich mit den Ergebnissen von Jüngling und Langendorff. Für den von ihnen angegebenen günstigen Zeitpunkt für die zweite Bestrahlung von 21 Stunden, konnten wir in keiner Weise eine potenzierte Wirkung feststellen. Im Gegenteil, die Wirkung ist, abgesehen von einer anfänglichen leichten Erhöhung der Mitosenzahlen verschwindend klein. Es wäre aber verfrüht aus unseren Resultaten einen tieferen Rückschluss über den Primär- und Sekundäreffekt im Sinne Jünglings und Langendorffs zu ziehen; ebenfalls über den Zeitpunkt von 21 Stunden nach der ersten Bestrahlung für die zweite Applikation, ein Urteil zu geben, sei es im positiven oder negativen Sinn, sehen wir uns ebenfalls

noch nicht berechtigt. Eine absolut reelle Vergleichsmöglichkeit wird sich erst aus solchen Versuchen ergeben, deren applizierte Röntgendosen weit über den von uns angewandten liegen.

V. Zusammenfassung

Geben wir nun einen zusammenhängenden Ueberblick über die Resultate unserer zwei Versuchsserien, so können wir folgendes feststellen:

1. Ein wesentlicher Unterschied der Resultate bei einer Applikation von einer Röntgendosis von 10 r und bei der Applikation von 150 r, konnte nicht festgestellt werden.
2. Das Ergebnis der ersten Versuchsserie (10 r) lässt uns die Möglichkeit eines Tagesrhythmus im Mitosenablauf als sehr plausibel erscheinen. Die z. T. negativen Resultate der zweiten Versuchsserie in dieser Beziehung, veranlassen uns, die Diskussion darüber noch nicht als abgeschlossen zu betrachten.
3. Sowohl bei der ersten Versuchsserie, wie bei der zweiten Serie, sowohl bei einmal bestrahlten, wie zweimal bestrahlten Wurzeln, konnte eine anfängliche Mitosenphasenverschiebung unter dem Einfluss von Röntgenstrahlen festgestellt werden.
4. Eine Beschleunigung des Mitosenrhythmus unter dem Einfluss von Röntgenstrahlen konnten wir weder bei der ersten noch bei der zweiten Versuchsserie erkennen.
5. Eine Beeinflussung des Mitosenablaufes im Sinne eines Primär- und Sekundäreffektes konnte, wenn auch nicht in so aus-

gesprochenem Masse, wie Jüngling und Langendorff es angeben, in beiden Versuchen festgestellt werden.

6. Unsere Versuche berechtigen in keiner Weise, den Zeitpunkt von 21 Stunden nach der ersten Bestrahlung für eine Applikation der zweiten Dosis bezüglich der Schädigung als besonders günstig zu betrachten. Wir können aber auch darüber die Diskussion nicht abschliessen, da die von uns applizierten Dosen vorläufig zu gering waren, um einen eindeutigen Effekt erwarten zu lassen.

Literaturangabe

Glocker R., Hayer F., Jüngling O.: Ueber die biologische Wirkung verschiedener Röntgenstrahlenqualitäten bei Dosierung in r-Einheiten. (St. Th. 32, 1929 1.)

Jüngling O. und Langendorff H.: Ueber die Wirkung verschieden hoher Röntgendosen auf den Kernteilungsablauf bei Vicia faba equina. (St. Th. 38 Bd.)

Jüngling O. und Langendorff H.: Ueber die Wirkung zeitlich verteilter Dosen auf den Kernteilungsablauf von Vicia faba equina. (St. Th. 44. Bd.)

Salzmann A.: Diss. 40.

Dölken K., Diss. 41.

Arnold J.: Diss. 41.

Herren P.: Diss. 41.

Bakes E.: Diss. 41.

Hauser J.: Diss. 41.